

**OPTIMASI BASIS KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN KAWISTA (*Limonia acidissima* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus***

**OPTIMIZATION OF CREAM BASE OF ETHANOLIC EXTRACT OF KAWISTA LEAVES (*Limonia acidissima* L.) AS ANTIBACTERIAL *Staphylococcus aureus***

**Christi Karina Nugraheni, Endang Diah Iksari, Lia Kusmita  
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Pharmasi" Semarang**

**SARI**

Daun kawista diketahui mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penggunaan emulgid dan parafin cair dalam sediaan krim sebagai emulgator dan pelembut diharapkan mampu meningkatkan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan karakteristik fisik krim yang memenuhi syarat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan menentukan formula optimal dengan komponen emulgid dan parafin cair dalam krim ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) pada karakteristik fisik dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode *Simplex Lattice Design*. Ekstrak etanol daun kawista didapatkan dengan cara remaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak kental diuji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran kemudian konsentrasi ekstrak yang optimal diformulasikan dalam sediaan krim. Berdasarkan *Design Expert 9.0.6.2 Trial*, didapatkan formula optimal dengan perbandingan konsentrasi emulgid dan parafin cair sebesar 24,848%:5,152%. Hasil pengujian formula optimal didapatkan rerata diameter zona hambat bakteri 11,50 mm, daya sebar 6,49 cm, viskositas 4480 cps, dan pH 5,46 dimana hasil tersebut berbeda tidak signifikan terhadap hasil prediksi *Design Expert 9.0.6.2 Trial*.

**Kata kunci :** Ekstrak etanol daun kawista, emulgid, karakteristik fisik, parafin cair, *Staphylococcus aureus*.

**ABSTRACT**

*Kawista leaves are known for its flavonoid, tannin, and alkaloid contents which can prevent the growth of Staphylococcus aureus. The addition of emulgade and liquid paraffin in the cream as an emulgator and emollient is hopefully able to improve the antibacterial activity of Staphylococcus aureus and qualified physical characteristic of the cream. The purpose of this experiment is to comprehend the influence of emulgade and liquid paraffin to the physical characteristic and antibacterial activity of Staphylococcus aureus with Simplex Lattice Design Method and to determine its optimal formula in the cream of ethanol extract of kawista leaves (Limonia acidissima L.). The ethanol extract of kawista leaves is gained via remaseration by 70% ethanol solvent. The vistous extract is tested for the antibacterial activity of Staphylococcus aureus using*

diffusion method then the optimal concentrated extract is formulated in cream form. Based on Design Expert 9.0.6.2 Trial, the optimal formula has emulgade and liquid paraffin ratio 24,848%:5,152%. The result of the optimal formula test is mean diameter of inhibition zone 11,50 mm; spreadability 6,49 cm; viscosity 4480 cps; and pH 5,46 which is insignificantly different from the prediction result of Design Expert 9.0.6.2 Trial.

**Key word :** Ethanol extract of kawista leaves, emulgade, physical characteristic, liquid paraffin, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan penyakit peradangan pada lapisan pilosebacea yang ditandai dengan munculnya komedo, papula, pustul, dan nodul (Kumar dan Sachidanand, 2001:138). Salah satu faktor penyebab jerawat adalah keberadaan dan aktivitas dari bakteri *Staphylococcus aureus*. (Leelapornpisid, dkk., 2005:97). Penelitian Neelamadhab, dkk. (2013 : 23) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penggunaan akan lebih mudah bila diformulasikan dalam sediaan krim. Bentuk krim dipilih dalam formulasi sediaan topikal dengan basis emulgid yang memiliki pelepasan senyawa aktif lebih baik dibandingkan basis Tween 80 dan Span 80 (Zougbi,

dkk., 2014:211-216). Basis yang dipilih dalam krim untuk penggunaan luar dibentuk dari fase minyak yang tidak terabsorpsi ke dalam kulit, yaitu parafin cair (Hamzah, dkk.,2014:382). Desain dan proses pembuatan produk farmasi sering melibatkan 2 faktor atau lebih yang saling berlawanan, sehingga diperlukan suatu metode optimasi untuk menghasilkan produk farmasi yang memuaskan (Armstrong & James, 2005 : 169-170). Metode *Simplex Lattice Design* merupakan desain percobaan untuk menentukan respons optimal dari suatu rancangan formula dengan komponen – komponen yang dapat dicampur secara fisik (Bolton, 1997 : 610).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan optimasi emulgid sebagai emulgator yang dapat menurunkan tegangan antarmuka dan parafin cair yang merupakan fase minyak dan

pelembut dalam krim tipe minyak dalam air. Formula tersebut diharapkan mampu menghasilkan karakteristik fisik dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* secara optimal dengan *Simplex Lattice Design*.

#### METODE PENELITIAN

Obyek yang diteliti adalah aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan karakteristik fisik krim ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L).

Alat penelitian adalah alat gelas, *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath*, spatel, plat tetes, lempeng silika gel GF 254, *spray*, lumpang dan alu, neraca digital (O'Hauss), cawan porselin, pH meter (Hanna Instrument), mikroskop (Novel XSZ-107BN), Viskosimeter Brookfield seri DV-1 Prime, *stopwatch*, otoklaf, ose bulat, spektrofotometer UV-Vis mini 1240 (Shimadzu), mikropipet, *Laminar Air Flow*, jangka sorong, alat ukur daya sebar, dan alat ukur daya lekat.

Bahan yang digunakan adalah daun kawista (*Limonia acidissima* L.), etanol 70%, biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213,

media *Nutrient Agar* (Oxoid), media *Mannitol Salt Agar* (Neogen), media *Nutrient Broth*, DMSO (*Dimetil sulfoksida*), bahan dengan *technical grade*, yaitu serbuk Mg, HCl<sub>(p)</sub>, amil alkohol, H<sub>2</sub>SO<sub>4(p)</sub>, HCl 1%, FeCl<sub>3</sub> 1%, serbuk natrium asetat, formaldehid 30%, eter, asam asetat anhidrat, amonia 30%, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, NaOH 1N, bahan dengan *pro analysis grade* yaitu n-butanol, asam asetat glasial, kloroform, metanol, toluene, etil asetat, bahan dengan *pharmaceutical grade* yaitu emulgid, parafin cair, dan aqua destilata.

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu remaserasi dengan cara merendam 400 gram serbuk daun kawista dengan 3000 ml etanol 70%. Penyarian dilakukan 5 x 24 jam dengan penggantian cairan penyari setiap 1 x 24 jam. Setelah 5 hari, maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental diuji bebas etanol yang dilakukan dengan menambahkan asam sulfanilat, HCl, dan larutan NaNO<sub>2</sub> ke dalam sejumlah kecil ekstrak. Campuran

ditambah larutan NaOH kemudian dipanaskan. Jika ekstrak masih mengandung etanol akan terbentuk warna merah frambos. Cara lain adalah dengan menambahkan asam asetat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ke dalam ekstrak kental, kemudian dipanaskan. Jika ekstrak masih mengandung etanol akan terbentuk bau pisang (Schoorl, 1988 : 48).

Pembuatan krim ekstrak etanol daun kawista didahului dengan formulasi basis krim yang terdiri atas emulgid, parafin cair, dan aqua

destilata (tabel 1). Pembuatan basis krim dilakukan dengan menimbang emulgid dan parafin cair dan dilelehkan di atas *waterbath* pada suhu 75°C. Campuran ditambah dengan aqua destilata (hangat) sedikit demi sedikit, diaduk hingga homogen dan diangkat dari *waterbath*. Basis krim dan ekstrak daun kawista ditimbang dan diaduk hingga homogen terbentuk sediaan krim yang siap diuji karakteristik fisik dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

**Tabel 1. Formula Basis Krim**

Bahan	F I	F II	F III	F IV	F V	F VI	F VII	F VIII
<b>Emulgid</b>	25%	10%	20%	25%	15%	5%	5%	15%
<b>Parafin Cair</b>	5%	20%	10%	5%	15%	25%	25%	15%
<b>Aquadest</b>	add	add	add	add	add	add	add	add
	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan krim dilakukan dengan metode difusi sumuran agar. Neomisin sulfat 0,1% digunakan sebagai kontrol positif. Media yang mengandung suspensi bakteri dan sediaan krim diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Zona hambat di sekitar sumuran mengindikasikan bahwa terdapat aktivitas antibakteri

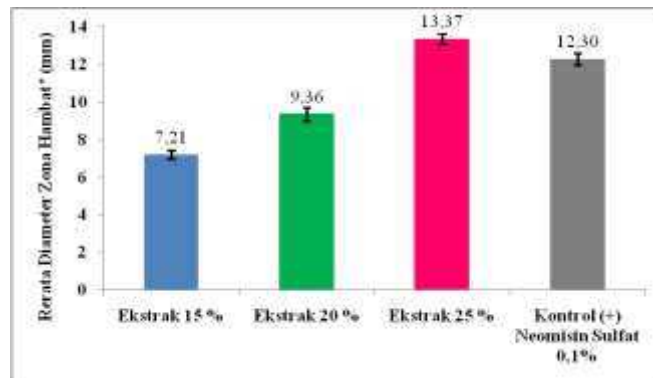
ekstrak etanol daun kawista pada sediaan krim yang dibuat.

Pengujian karakteristik fisik sediaan krim meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan tipe krim.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi serbuk daun kawista menghasilkan rendemen 35,57% dan ekstrak sudah bebas etanol dengan tidak terbentuk warna merah maupun bau pisang (Schoorl, 1988: 48). Skrining fitokimia pada serbuk dan ekstrak menunjukkan bahwa serbuk maupun ekstrak mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid yang ditegaskan kembali dengan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kawista dilakukan untuk memastikan bahwa kandungan senyawa aktif dalam ekstrak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta menentukan konsentrasi ekstrak dalam sediaan krim. Konsentrasi 25% dengan diameter zona hambat terbesar ditetapkan sebagai konsentrasi optimal untuk diformulasikan dalam sediaan krim (gambar 1).



Gambar 1. Pengujian Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kawista

Optimasi emulgid dan parafin cair dilakukan dengan membuat 8 formula (tabel 1). Semua formula diuji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan karakteristik fisik yang meliputi uji

organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan tipe krim (tabel 2). Respon aktivitas antibakteri, daya sebar, pH, dan viskositas sebagai parameter optimasi sediaan krim (tabel 3).

Tabel 2. Karakteristik Fisik dan Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Etanol Daun Kawista

Uji	Formula							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Organoleptis	Krim	Krim	Krim	Krim	Krim	Krim	Krim	Krim
- Konsistensi	kental	encer	kental	kental	kental	encer	encer	kental
- Warna	+++++	++	+++	+++++	+++	+	+	+++
	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau	Hijau
- Bau	>	>>>	>>	>	>>	>>>	>>>	>>
	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas	Khas
	daun	daun	daun	daun	daun	daun	daun	daun
	kawista	kawista	kawista	kawista	kawista	kawista	kawista	kawista
pH	5,47 ± 0,02	5,15 ± 0,02	5,23 ± 0,02	5,50 ± 0,08	5,19 ± 0,02	5,12 ± 0,01	5,12 ± 0,01	5,20 ± 0,01
Viskositas (Cps)	4420,25 ± 98,15	2954 ± 30	3969 ± 15,49	4662,75 ± 134,13	3578 ± 38,26	2195 ± 70,47	2411,25 ± 42,77	3329 ± 22,98
Daya sebar (cm)	6,50 ± 0,04	8,15 ± 0,04	6,90 ± 0,05	6,49 ± 0,02	7,54 ± 0,05	9,01 ± 0,09	9,06 ± 0,09	7,58 ± 0,06
Daya lekat (detik)	3,40 ± 0,38	2,50 ± 0,45	3,03 ± 0,05	3,31 ± 0,14	2,01 ± 0,03	1,39 ± 0,15	1,58 ± 0,15	2,06 ± 0,06
Tipe krim	M/A	M/A	M/A	M/A	M/A	M/A	M/A	M/A
Aktivitas antibakteri (mm)	11,70 ± 0,25	7,36 ± 0,03	10,34 ± 0,01	11,70 ± 0,08	9,45 ± 0,10	6,40 ± 0,01	6,33 ± 0,04	9,45 ± 0,10

Keterangan:

(+, ++, +++, +++++, ++++++) semakin kental

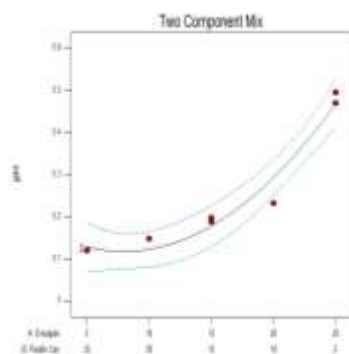
(>, >>, >>>) semakin hijau pekat

Data uji karakteristik fisik dan aktivitas antibakteri krim ekstrak etanol daun kawista pada tabel 7 adalah rerata dari empat kali repetisi ± standar deviasi.

**Tabel 3. Persamaan Berdasarkan Design Expert 9.0.6.2 Trial**

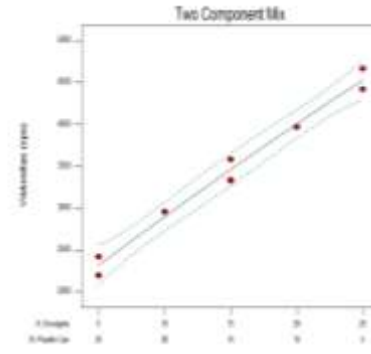
Respon	Persamaan
Aktivitas Antibakteri	$Y = 12,77515 (A) + 4,66662 (B) + 1,97149 (A)(B)$
Daya Sebar	$Y = 6,15500 (A) + 9,96617 (B) - 2,17597 (AB)$
pH	$Y = 5,70525 (A) + 5,19358 (B) - 1,08353 (A)(B)$
Viskositas	$Y = 5038,24020 (A) + 1715,40686 (B) + 336,44118 (A)(B)$

Design Expert Software  
Optimizing Quality  
pH  
A: Krim Kental  
B: Daya Sebar  
C: pH  
D: Viskositas

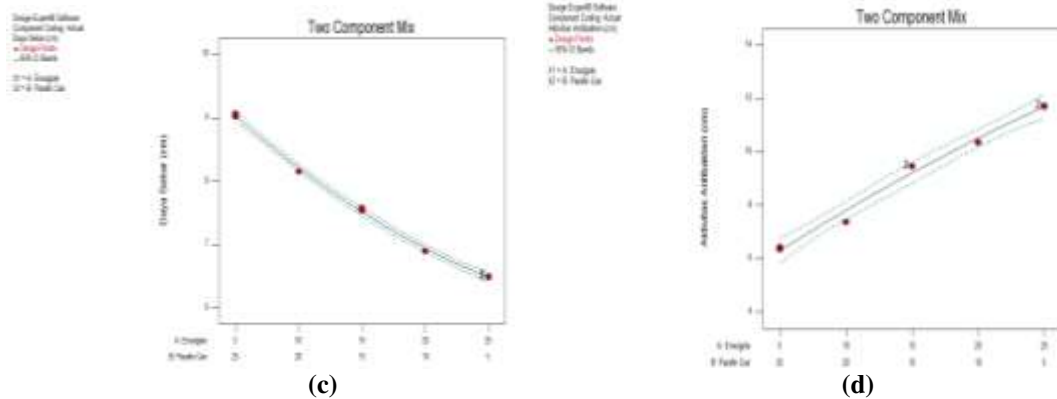


(a)

Design Expert Software  
Optimizing Quality  
Viskositas (Cps)  
A: Krim Kental  
B: Daya Sebar  
C: pH  
D: Viskositas



(b)



**Gambar 2. Profil Respons Berdasarkan Simplex Lattice Design (a). pH (b). Viskositas (c).Daya Sebar (d). Aktivitas Antibakteri**

Uji organoleptis menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi emulgid maka konsistensi sediaan krim semakin kental. Berdasarkan Tabel 2, seluruh sediaan menunjukkan hasil yang homogen.

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 1, terlihat bahwa emulgid berpengaruh dominan dalam meningkatkan pH dan kurva melengkung ke atas menunjukkan interaksi kedua bahan menurunkan pH karena reaksi oksidasi parafin cair menghasilkan asam organik (Rowe,dkk.,2009:446), sehingga pH menurun. Pada pengujian viskositas, terlihat bahwa emulgid berpengaruh dominan meningkatkan viskositas dan kurva linier ke kanan menunjukkan interaksi kedua bahan meningkatkan viskositas karena

emulgid berupa lilin padat lembut sebagai pembentuk konsistensi, selain itu emulgid merupakan emulgator nonionik yang netral dan stabil pada pH asam maupun basa, sehingga peningkatan viskositas tidak dipengaruhi penurunan pH dari interaksi kedua komponen. Semakin besar konsentrasi emulgid, viskositas sediaan krim semakin besar.

Pengujian daya sebar dilakukan karena mencerminkan kemampuan krim untuk menyebar pada tempat pemakaian, diharapkan krim mudah menyebar. Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 3, terlihat bahwa parafin cair memiliki pengaruh dominan dalam meningkatkan daya sebar dan interaksi kedua bahan menurunkan daya sebar krim karena viskositas meningkat. Pengujian daya lekat

bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan krim melekat pada kulit. Profil daya lekat sebanding dengan viskositas. Semakin tinggi viskositas maka daya lekat semakin lama. Hal ini ditunjukkan pada Formula I dan IV yang memiliki daya lekat terbesar (3,40 dan 3,31 detik) dengan viskositas 4420 cps dan 4662 cps.

Aktivitas antibakteri sediaan krim ekstrak etanol daun kawista ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 4 yakni emulgid berpengaruh dominan dalam meningkatkan aktivitas antibakteri dan interaksi kedua komponen meningkatkan aktivitas antibakteri. Hal ini disebabkan emulgid sebagai emulgator yang dapat menurunkan tegangan antarmuka dari fase minyak dan fase air, sehingga meningkatkan kestabilan sediaan krim dan

memperantarai pelepasan ekstrak dari basis krim. Semakin tinggi konsentrasi emulgid yang digunakan, maka stabilitas sediaan krim semakin meningkat, sehingga pelepasan zat aktif dan aktivitas antibakteri sediaan krim maksimal.

Penentuan formula optimal diperoleh dari perhitungan menggunakan *Design Expert 9.0.6.2 Trial* dengan parameter optimasi aktivitas antibakteri, daya sebar, pH, dan viskositas sediaan krim. Formula yang terpilih adalah formula dengan konsentrasi emulgid yakni 24,848% dan parafin cair 5,152% dengan *desirability* 0,983. Formula optimal tersebut dibuat dengan cara yang sama dan dilakukan pengujian. Hasil pengujian sediaan krim ekstrak etanol daun kawista formula optimal seperti pada Tabel 4.

**Tabel 4. Hasil Pengujian Formula Optimal**

Uji	Hasil
Organoleptis	Krim lembut
Homogenitas	Warna hijau muda dan bau khas daun kawista
Tipe Krim	Homogen
Aktivitas Antibakteri (mm)*	Minyak dalam air
Daya Sebar (cm)*	11,50±0,29
pH*	6,49±0,02
Viskositas (cps)*	5,46±0,02
	4480±31,62

Keterangan:

\*rerata±SD, n = 5 kali replikasi



Validasi persamaan dengan *T-Test* digunakan untuk membuktikan apakah persamaan *Simplex Lattice*

*Design* yang diperoleh sudah valid atau belum. Hasil *T-Test* disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5. *T-Test* antara Hasil Teoretis dan Percobaan**

Uji	Hasil Teoretis	Hasil Percobaan	Signifikasi	Kesimpulan
Aktivitas Antibakteri (mm)	11,66	11,50	0,279	Berbeda tidak signifikan
Daya Sebar (cm)	6,50	6,50	0,553	Berbeda tidak signifikan
pH	5,46	5,46	0,890	Berbeda tidak signifikan
Viskositas ( <i>cps</i> )	4515,47	4480	0,066	Berbeda tidak signifikan

Berdasarkan Tabel 5, hasil percobaan masing-masing parameter uji dibandingkan dengan hasil teoretis untuk validasi persamaan *Simplex Lattice Design* formula optimal berbeda tidak signifikan karena nilai signifikansi hasil teoretis dengan hasil pengujian  $> 0,05$  maka dikatakan formula optimal dari *Design Expert 9.0.6.2 Trial* valid. Hal ini menunjukkan bahwa persamaan dari masing-masing parameter optimasi dapat digunakan untuk memprediksi hasil yang diharapkan.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Berdasarkan persamaan *Simplex Lattice Design* dapat diketahui pengaruh masing-masing komponen dan interaksi 2 komponen dalam sediaan krim berbeda signifikan.
  - a. Emulgid memiliki pengaruh yang dominan dalam meningkatkan pH, viskositas, dan aktivitas antibakteri krim.
  - b. Parafin cair memiliki pengaruh yang dominan dalam meningkatkan daya sebar krim.
  - c. Interaksi emulgid dan parafin cair meningkatkan aktivitas antibakteri dan viskositas krim, serta menurunkan daya sebar dan pH.

2. Formula optimal krim ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) memenuhi syarat dengan kombinasi komponen emulgid sebagai bahan emulgator dan parafin cair sebagai pelembut adalah pada perbandingan 24,848% : 5,152%.

## SARAN

1. Perlu dilakukan fraksinasi dan isolasi senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun kawista yang dominan sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukan pengujian stabilitas sediaan krim selama penyimpanan pada suhu kamar.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa sebab atas rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Penulis ucapkan terima kasih kepada Dr. Endang Diah Iksari, M.Si., Apt. dan Lia Kusmita, S.Si., M.Si., atas segala waktu, arahan, motivasi, dan nasihat yang diberikan dalam menyelesaikan penelitian ini. Ucapan

terima kasih juga disampaikan kepada Intan Martha Cahyani, M.Sc., Apt., dan Indah Sulistyarini, M.Si., atas saran dan masukan yang diberikan untuk penelitian ini, serta PT. Phapros, Tbk yang telah bersedia membantu dalam pengadaan bahan baku neomisin sulfat sebagai kontrol positif dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Armstrong, N.A. dan James, K.C. 2005. *Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation*. London : Taylor and Francis e-Library.
- Bolton, S. 1997. *Pharmaceutical Statistic : Practical and Clinical Applications*. 3<sup>rd</sup> Edition. New York : Marcel Dekker, Inc.
- Hamzah, N., Isriany, I., dan Andi, D.A.S. 2014. Pengaruh Emulgator Terhadap Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn). *Jurnal Kesehatan*. Volume 7(2) : 376-385.
- Kumar, B. H. A. dan Sachidanand, Y. N. 2001. Treatment of Acne Vulgaris with New Polyherbal Formulations, Clarina Cream and Purim Tablets. *Indian Journal of Dermatology*. Volume 46(3): 138-141.

- Leelapornpisid, P., Chansakao, S., Ittiwittayawat, T., dan Pruksakorn, S. 2005. Antimicrobial Activity of Herbal Extracts on *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes*. *International Society for Horticultural Science*. Volume 5(3): 97-104.
- Neelamadhab, P., Jagannath, P., Basanta, K.J., dan Prasanta, K. P. 2013. Evaluation of Phytochemical and Anti-Microbial Activity of Ethanolic Extract of *Limonia Acidissima* L. Leaves. *International Journal of Herbal Medicine*. Volume 1 (1) : 21-26.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., dan Owen, S.C. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Exipients* 6<sup>th</sup> Ed. London : The Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Schoorl. 1998. *Materi Pelengkap Kemurnian Cara Pemisahan Obat*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Zougbi, A.K., Mohammad, O., dan Issa, H. 2014. Preparation and Evaluation of Semisolid dosage forms Containing *Ferula Hermonis* Extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Volume 25(2):211-216.